

Document made available under the Patent Cooperation Treaty (PCT)

International application number: PCT/KR04/003546

International filing date: 30 December 2004 (30.12.2004)

Document type: Certified copy of priority document

Document details: Country/Office: KR
Number: 10-2004-0036197
Filing date: 21 May 2004 (21.05.2004)

Date of receipt at the International Bureau: 14 February 2005 (14.02.2005)

Remark: Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in compliance with Rule 17.1(a) or (b)



World Intellectual Property Organization (WIPO) - Geneva, Switzerland
Organisation Mondiale de la Propriété Intellectuelle (OMPI) - Genève, Suisse



**This is to certify that the following application annexed hereto
is a true copy from the records of the Korean Intellectual
Property Office.**

출 원 번 호 : 특허출원 2004년 제 0036197 호
Application Number 10-2004-0036197

출 원 년 월 일 : 2004년 05월 21일
Date of Application MAY 21, 2004

출 원 인 : 주식회사 엠디바이오알파
Applicant(s) MD Bioalpha

2005 년 1 월 14 일

특 허 청
COMMISSIONER



【서지사항】

【서류명】	특허출원서
【권리구분】	특허
【수신처】	특허청장
【참조번호】	0036
【제출일자】	2004.05.21
【국제특허분류】	A61K
【발명의 명칭】	크립토탄시논을 유효성분으로 함유하는 동맥경화증, 고지혈증 및 간 질환의 예방 및 치료용 조성물
【발명의 영문명칭】	arteriosclerosis, hyperlipidemia and liver disease treatment with cryptotanshinone
【출원인】	
【명칭】	주식회사 엠디바이오알파
【출원인코드】	1-2002-014727-9
【발명자】	
【성명의 국문표기】	박명규
【성명의 영문표기】	PARK, Myunggyu
【주민등록번호】	601102-1260415
【우편번호】	449-906
【주소】	경기도 용인시 기흥읍 서천리 SK 서그네마을 APT 107동 302호
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	김재범
【성명의 영문표기】	KIM, Jaebum
【주소】	서울시 관악구 신림동 서울대학교 생명과학부 20동 113호
【국적】	US
【발명자】	
【성명의 국문표기】	하주헌
【성명의 영문표기】	HA, Joohun
【주민등록번호】	630827-1690215

【우편번호】	140-727
【주소】	서울특별시 용산구 이촌1동 강촌아파트 105동 52호
【국적】	KR
【취지】	특허법 제42조의 규정에 의하여 위와 같이 출원합니다. 출원인 주식회사 엠디바이 오알파 (인)
【수수료】	
【기본출원료】	0 면 38,000 원
【가산출원료】	19 면 0 원
【우선권 주장료】	0 건 0 원
【심사청구료】	0 항 0 원
【합계】	38,000 원
【감면사유】	중소기업
【감면 후 수수료】	19,000 원
【첨부서류】	1. 중소기업기본법시행령 제2조에 의한 중소기업에 해당함을 증명하는 서류_1통

【요약서】

【요약】

본 발명은 크립토탄시논을 유효성분으로 함유하는 동맥경화증, 고지혈증 및 간 질환의 예방 및 치료용 조성물에 관한 것으로 더욱 상세하게는 혈중 지질의 농도를 낮추고, 간세포의 손상 및 지방간 형성을 강력히 억제하는 활성을 나타내는 다음 화학식 1로 표시되는 크립토탄시논 (cryptotanshinone)을 유효성분으로 함유하는 동맥경화증, 고지혈증 및 간 질환의 예방 및 치료용 조성물에 관한 것이다

【대표도】

도 1

【색인어】

크립토탄시논 (cryptotanshinone), 동맥경화증, 고지혈증, 간질환

【명세서】

【발명의 명칭】

크립토탄시논을 유효성분으로 함유하는 동맥경화증, 고지혈증 및 간 질환의 예방 및 치료용 조성물 {arteriosclerosis, hyperlipidemia and liver disease treatment with cryptotanshinone}

【도면의 간단한 설명】

도 1은 크립토탄시논을 투여한 C57BL/6JL *Lep ob/Lep ob* mice와 대조군의 간조직을 비교한 사진이다.

도 2는 크립토탄시논을 투여한 C57BL/6JL *Lep ob/Lep ob* mice와 대조군의 각 장기 조직의 무게 비교한 그래프이다.

도 3는 정상 쥐 (B6)와 비만 쥐 (ob/ob) 및 크립토탄시논을 투여한 비만 쥐 (ob/ob)의 간 조직에 지방의 분포를 비교한 사진이다.

【발명의 상세한 설명】

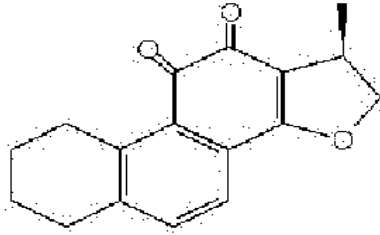
【발명의 목적】

【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】

<4> 본 발명은 크립토탄시논을 유효성분으로 함유하는 동맥경화증, 고지혈증 및 간질환의 예방 및 치료 조성물에 관한 것으로 더욱 상세하게는 혈중 지질의 농도를 낮추고, 간 세포의 손상 및 지방간화를 강력히 억제하는 활성을 나타내는 다음 화학식 1로 표시되는 크립토탄시논 (cryptotanshinone)을 유효성분으로 함유하는 동맥경화증, 고지혈증 및 간 질환의 예방 및 치료용 조성물에 관한 것이다.

<5> 화학식1

<6>



<7> 복잡하고 다양한 스트레스가 쌓이는 현대사회에서 만성적인 알코올 섭취에 의한 환자의 증가는 서구 선진국뿐 아니라 전 세계적으로 커다란 사회문제로 대두되고 있다. 알코올은 대부분 간에서 대사 되지만, 알코올을 처리하는 간의 능력에는 한계가 있기 때문에 이 한계를 넘어서게 되면 여러 가지 대사장애를 초래하게 된다. 즉, 과량의 알코올을 만성적으로 섭취하게 되면 세포 내 NADH/NAD^+ 의 비율이 증가하여 탄수화물, 단백질 및 지질대사의 장애를 초래한다. 특히 간 조직 내에서 활발히 일어나는 지방 대사의 장애로 인하여 지방산의 산화가 억제되는 반면 지방산 합성이 증가되고, 아세트알데히드 (acetaldehyde)의 독성에 의해 마이크로튜블 (microtubule)의 손상이 일어나 결국 지방간이 유발되고 심하면 알코올성 간염이나 간 경화증을 일으킬 수 있다.

<8> 지방간 형성 기전은 아직 완전히 규명되지는 않았지만, 하기와 같은 몇 가지 요인들의 조합에 의해서 유발되는 것으로 알려져 있다. 즉, 간에 축적되는 트리아실글리세롤의 이용에 관한 에탄올 산화 작용과 호르몬의 방출 시 에탄올에 의하여 지방 조직 으로부터 간으로의 트리아실글리세롤의 이동 및 아미노산 이용률의 변화 등을 통하여 트리아실글리세롤의 운반에 필요한 충분한 지방단백질을 합성하지 못하여 유발된다.

- <9> 지방성 간경화증은 간세포에 지방(트리아실글리세롤)이 침투한다는데 특징이 있다.
- 이러한 침투는 일반적으로 알코올과 고지방식이 또는 염소화 탄화수소의 섭취로 인해 발생하는 것이다.
- <10> 한편, 지방성분이 많이 포함된 음식 또는 알코올을 과다하게 섭취하거나, B형 또는 C형 간염 바이러스 등에 감염될 경우 간 기능이 저하되고 악화될 경우 간염, 간경변증, 간암 등을 유발하게 된다. 특히, 음식을 통하여 과다한 지방을 섭취할 경우 지방간이 유도되어 간 조직에 지질이 많이 쌓이게 되고, 또한 과도한 알코올 섭취도 지방간을 유발할 수 있다. 지방간을 보이는 환자의 경우 혈청 GOT (glutamate-oxaloacetate transaminase), GPT (glutamate-pyruvate transaminase), γ GTP (γ -glutamyl transpeptidase) 등이 증가하게 된다 (T. Banciu, et al., "The Hepatic Component in Alcoholic Encephalopathy", Med. Interne., 20, 69~71 (1982); 및 A. Par, et al., "Serum Gamma-Glutamyl Transpeptidase: Its Clinical Significance", Acta. Med. Acad. Sci. Hung., 33, 309-319 (1976)).
- <11> 크립토탄시논을 함유하고 있는 단삼을 이용한 유사분야의 선행기술을 보면 다음과 같다.
- <12> 대한민국특허 출원번호 10-2000-0067315에서는 단삼을 포함한 다수의 한약재 추출물을 이용하여 고지혈증과 협심증 예방 및 치료용 생약조성물을 출원하였으며 출원번호 10-2001-0005841에서는 메탄올 추출한 단삼추출물을 사용하여 담즙성 간섬유화 억제 조성물 및 담즙성 간섬유화에 의한 간경화 치료 또는 예방용 조성물에 대하여 기술하였다. 출원번호 10-1999-0035427에서는 삼칠근과 단삼우니 혼합추출물을 유효 성분으로하는 혈압강하 및 유지가 가능한 고혈압 치료 및 콜레스테롤 저하 조성물 및

그의 제조방법에 대하여 기술하였다. LIN등은(J pharmacol. Sci. 91, 202-210(2003)) 사염화탄소를 주입하여 급성 간독성을 유발한 쥐에 단삼추출물을 투여하여 간독성을 중화시키는 효과를 확인하였다. Vacca 등은(phytotherapy research 17, 537-541(2003)) 단삼추출물이 알코올섭취에 미치는 영향을 검토하여 단삼추출물에 의하여 알코올 섭취량이 적어짐을 확인하였다.

<13> 본 발명자들은 크립토탄시논 (cryptotanshinone)이 혈중 지질의 농도를 낮추고, 간세포의 손상 및 지방간화를 강력히 억제하는 효능이 있음을 확인하여 본 발명을 완성하게 되었다.

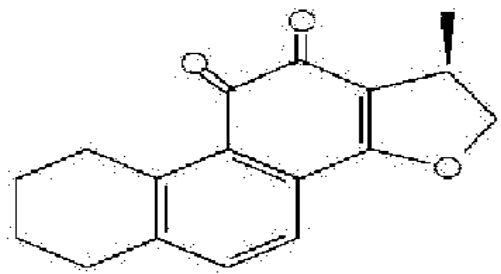
【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

<14> 본 발명은 크립토탄시논 (cryptotanshinone)을 포함하는 동맥 경화증, 고지혈증 및 간 질환의 예방 및 치료용 조성물에 관한 것으로 크립토탄시논 (cryptotanshinone)을 사용하여 동맥경화증, 고지혈증 및 간질환의 예방 및 치료용 약제 조성물을 제공하는 것이다.

【발명의 구성 및 작용】

<15> 본 발명은 동맥경화증, 고지혈증 및 간 질환의 예방 및 치료용 조성물로 하기 화학식 1로 표시되는 크립토탄시논을 유효성분으로 함유하는 동맥경화증, 고지혈증 및 간질환의 예방 및 치료용 조성물에 관한 것이다.

<16>



<17> 상기 화학식 1로 표시되는 크립토탄시논은 간 조직에서 지방의 축적을 억제하고 간 및 혈중에서 트리글리세라이드 (triglyceride)의 함량을 낮추는 효과를 통하여 동맥 경화증, 고지혈증 및 간 질환을 치료하게 된다.

<18> 본 발명이 유효성분으로 사용하는 상기 화학식 1로 표시되는 크립토탄시논은 생약제인 단삼을 주원료로 추출할 수 있다. 이러한 추출방법은 통상적인 것으로, 먼저 메탄올로 추출하여 감압 농축한 후, 메틸렌 클로라이드로 재추출하여 얻어진 농축 용액을 실리카 칼럼 크로마토그래피로 정제함으로써 순수한 크립토탄시논을 얻는다.

<19> 이에, 본 발명에서는 생리활성이 부여된 크립토탄시논에 대하여 비만쥐 (ob/ob mouse)에서 간세포에 지방의 축적저하와 간과 혈중에서의 트리글리세라이드 (triglyceride) 저하 활성을 측정하였으며, 그 결과 이들 화합물이 우수한 활성을 보임을 확인할 수 있다

<20> 따라서, 상기 화학식 1로 표시되는 크립토탄시논이 유효성분으로 함유되어 있는 동맥 경화증, 고지혈증 및 간 질환 예방 및 치료제 조성물은 혈중 지질의 농도를 낮추고, 간세포의 손상 및 지방 간화를 강력히 억제하는 활성을 통하여 동맥경화증, 고지혈증 및 간 질환을 예방 및 치료할 수 있기 때문에 동맥경화증, 고지혈증 및 간 질환과 이와 관련된 각종 대사성 질병에 대한 다양한 약제로의 개발이 가능하리라 사료된다.

본 발명에 따른 동맥경화증, 고지혈증 및 간 질환 예방 및 치료제 조성물은 상기 화학식 1로 표시되는 크립토탄시논을 유효성분으로 함유하고 있으며, 여기에 약제학적으로 허용 가능한 담체와 함께 필요에 따라 동맥경화증, 고지혈증 및 간 질환 예방 및 치료제로 제조할 수 있다.

<21> 본 발명의 약제학적 조성물의 적합한 투여량은 제제화 방법, 투여 방식, 환자의 연령, 체중, 성, 병적 상태, 음식, 투여 시간, 투여 경로, 배설 속도 및 반응 감응성과 같은 요인들에 의해 다양하게 처방 될 수 있다. 본 발명의 동맥경화증, 고지혈증 및 간 질환 예방 및 치료제의 약학적 조성물은 상기 크립토탄시논을 유효 성분으로 함유한다. 상기 크립토탄시논은 임상 투여 시에 경구 또는 비경구로 투여가 가능하며 일반적인 의약품 제제의 형태로 사용될 수 있다. 즉, 본 발명의 크립토탄시논은 실제 임상 투여 시에 경구 및 비경구의 여러 가지 제형으로 투여될 수 있는데, 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충전제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제 및 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구 투여를 위한 고형 제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제 및 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형 제제는 크립토탄시논에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 탄산칼슘, 수크로스, 락토오스 및 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스티레이트 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구 투여를 위한 액상 제제

로는 현탁제, 내용액제, 유제 및 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순 희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제 및 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조제 및 좌제가 포함된다. 비수성용제와 현탁용제로는 프로필렌글리콜, 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔(witepsol), 마크로골, 트윈(tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세롤 및 젤라틴 등이 사용될 수 있다.

<22> 투약 단위는, 예를 들면 개별 투약량의 1, 2, 3 또는 4배를 함유하거나 또는 1/2, 1/3 또는 1/4배를 함유할 수 있다. 개별 투약량은 바람직하기로는 유효 약물이 1회에 투여되는 양을 함유하며, 이는 통상 1일 투여량의 전부, 1/2, 1/3 또는 1/4배에 해당한다. 크립토탄시논의 유효용량은 농도 의존적이나 바람직하게는 0.1mg 내지 1g/kg 이고, 더욱 바람직하기로는 0.4 내지 200 mg/kg이며, 하루 1-6 회 투여될 수 있다.

<23> 또한, 본 발명은 크립토탄시논을 유효성분으로 함유하는 동맥경화증, 고지혈증 및 간 질환 예방 및 치료용 건강식품 조성물을 제공한다. 본 명세서에서 건강식품이란 일반 식품에 크립토탄시논을 첨가함으로써 일반 식품의 기능을 향상시킨 식품이며, 크립토탄시논을 일반식품에 첨가하거나, 캡슐화, 분말화, 현탁액 등으로 제조할 수 있다. 이를 섭취할 경우 건강상 특정한 효과를 가져오고, 일반 약품과는 달리 식품을 원료로 하였기 때문에 약품의 장기 복용 시 발생할 수 있는 부작용 등

이 없는 장점이 있다. 본 발명의 크립토탄시논을 식품 첨가물로 사용할 경우, 상기 크립토탄시논을 그대로 첨가하거나 다른 식품 또는 식품 성분과 함께 사용되고, 통상적인 방법에 따라 적절하게 사용될 수 있다. 유효 성분의 혼합량은 그의 사용 목적(예방, 건강 또는 치료적 처치)에 따라 적합하게 결정될 수 있다. 일반적으로, 크립토탄시논을 식품 또는 음료의 제조 시에 원료에 대하여 0.0001 내지 10 중량%, 바람직하게는 0.1 내지 5 중량%의 양으로 첨가될 수 있다. 그러나, 건강 및 위생을 목적으로 하거나 또는 건강 조절을 목적으로 하는 장기간의 섭취의 경우에는 상기 양은 상기 범위 이하로 조절할 수 있다. 또한, 본 발명의 건강식품은 상기 약학적 조성물로 이용하는 경우는 측정된 독성 범위 내의 크립토탄시논을 함유되도록 하는 것이 바람직하다. 상기 식품의 종류에는 특별한 제한은 없다. 상기 크립토탄시논을 첨가할 수 있는 식품의 예로는 육류, 소세지, 빵, 초코렛, 캔디류, 스낵류, 과자류, 피자, 라면, 기타 면류, 껌류, 아이스크림류를 포함한 낙농제품, 각종 스프, 음료수, 차, 드링크제, 알콜 음료 및 비타민 복합제 등이 있다. 구체적으로, 크립토탄시논을 함유하는 건강 식품으로는 크립토탄시논을 주성분으로 만든 즙, 차, 젤리, 주스 등의 건강식품 및 기호품을 들 수 있으며, 부종, 신장염, 요도염 등을 목적으로 하는 민간요법제 등을 들 수 있다.

<24> 이하 본 발명을 다음과 같은 실시예에 의하여 더욱 상세하게 설명하고자 한다. 단, 다음의 실시예는 본 발명을 예시하기 위한 것일 뿐, 본 발명의 범위가 이것들 만으로 한정되는 것은 아니다.

<25> **실시예 1: 크립토탄시논의 분리**

<26> 단삼 (*S. miltiorrhza*) 은 안동의 한약재상에서 구입 (5 kg) 하여 재료로 사용하였으며, 그 이외의 재료들은 약재상에서 구입하거나 채집하였다. 단삼은 메탄올 50 l로 24 시간 용출시킨 후 감압 농축하였다. 여기에, 물 1500 ml를 첨가하고 동량의 n-헥산, 디클로로메탄 (CH_2Cl_2), 에틸아세테이트 (EtOAc)를 넣어 차례로 2회 반복 추출하여 겔 (gel) 상태의 붉은색 추출물을 얻었다. 각각의 층을 대상으로 활성을 검증한 결과 디클로로메탄 층에서 활성이 가장 높았다.

<27> 실리카 겔 [Merck, Kieselgel 60, 230~460 mesh]을 100% n-헥산으로 충분히 스웰링 (swelling) 한 후 칼럼 (5*35 cm)에 패킹 (packing)하였다. 여기에 CH_2Cl_2 층에서 얻은 50 g의 추출물을 소량의 EtOAc 와 n-헥산에 녹여서 시료를 로딩 (loading)하였다. 시료 로딩 후 충분히 용출시킨 다음 EtOAc 를 10 ~ 20%로 용출하고, $\text{MeOH}/\text{CHCl}_3 = 0/100 \text{ (v/v)} \rightarrow 50/50 \text{ (v/v)}$ 으로 단계적 용출하여 크립토텐시논을 얻었다. 지방세포의 분화억제를 통하여 활성 분획을 모아 감압 농축하였다. 첫 번째 칼럼에서 활성을 보인 물질을 다시 실리카 겔 [Merck, Kieselgel 60, 230~460 mesh]을 이용하여 분리하였다. 100% n-헥산으로 스웰링 (swelling) 한 후, 칼럼 (4*25 cm)에 패킹 (packing)하였다. $\text{EtOAc}/\text{n-헥산} = 0/100 \text{ (v/v)} \rightarrow 20/80 \text{ (v/v)}$ 을 전개용매로 사용하여 얻었다. 저해활성 분획을 모아 감압 농축하였다. 그런 다음, $\text{EtOAc}/\text{n-헥산} = 30/70 \text{ (v/v)}$ 전개용매 하에서 Prep-TLC를 수행하였다. 각 단계에서 TLC를 수행하여 각 분획의 분리 정도를 관찰하고 전개용매는 노말 페이스 (normal phase)에서 $\text{EtOAc}/\text{n-헥산} = 80/20 \text{ (v/v)}$ 을 사용하였다. 각 물질의 검색은 아니스알데하이드 염색 용매 (5% H_2SO_4 , 2.5% 아세트산, 5% 아니스알데하이드, 87.5% 에탄올)를 사용하여 TLC 플레이트 (plate)를 핫 플레이

트 (hot plate)에서 가열하여 발색시켰다. 이상과 같은 방법으로 저해물질을 추출하고 분리 정제하였다.

<28> **실시에 2: 분리된 활성물질의 구조분석**

<29> 상기 실시에 1에서 분리한 크립토텐시논의 구조를 결정하기 위하여 분자량 및 핵자기 공명 (NMR) 분석을 수행하였다.

<30> (1) 분자량 분석

<31> 질량분석기를 이용하여 고해상도 질량분석을 행한 결과, 합성된 크립토텐시논의 분자량은 296이고 분자식은 $C_{19}H_{20}O_3$ 인 것으로 판명되었다.

<32> EI-MS (m/z) : 296 (M^+), 268 (M^+-CO), 253

<33> (2) 핵자기공명 (NMR) 분석

<34> 1H -NMR ($CDCl_3$) : 델타 7.42 (2H, ABq, $J=8.0$ Hz), 4.83 (1H, t, $J=9.2$ Hz), 4.31 (1H, dd, $J=9.2$ and 6.0 Hz), 3.55 (1H, m), 3.17 (2H, br t), 1.65 (4H, m), 1.40 (3H, d, $J=6.8$ Hz), 1.28 (6H, s)

<35> ^{13}C -NMR ($CDCl_3$) : 델타 29.58 (C-1), 19.00 (C-2), 37.73 (C-3), 34.76 (C-4), 143.57 (C-5), 132.48 (C-6), 122.43 (C-7), 128.30 (C-8), 126.19 (C-9), 152.28 (C-10), 184.16 (C-11), 175.59 (C-12), 118.21 (C-13), 170.66 (C-14), 81.38 (C-15), 34.54 (C-16), 18.74 (C-17), 31.85 (C-18), 31.80 (C-19)

<36> (3) 물리화학적 성질

<37> 크립토텐시논의 물리화학적 성질은 다음 표 1과 같다.

<38> 외형: 오렌지분말

<39> 분자식 : C19H20O3

<40> 분자량 : 296

<41> 융점 : 190-192도

<42> 가용성 : 메탄올, DMSO

<43> 불용성 : 물

<44> **실시에 3 : cryptotanshinone 투여에 의한 비만 쥐 (ob/ob)에서 지방간 감소**

<45> (주)대한 실험동물 센터로부터 비만의 특성을 갖고 있는 웅성 C57BL/6JL *Lep ob/Lep ob* 마우스는 10주령을 구입하였다. 온도 23도 습도 55% 조도 300-500 lux, 명암주기 12시간, 배기 10-18회/hr의 사육환경이 유지된 사육장에서 사육하였다. 사료는 (주)퓨리나의 실험동물 고형사료 (Purina Rodent Laboratory Chow 5001, Purina Mills, USA)를 구입하여 자유로이 공급하였으며 음용수는 수돗물을 자유롭게 섭취시켰다. 2주간의 순화과정을 거친 후 크립토탄시논을 경구를 통하여 50mg/kg/day으로 26일 동안 14:00-16:00 사이에 투여하였다. 26일간의 투여를 마친 후 brain, liver, right subcutaneous fat (right inguinal region), epididymal fat tissues, interscapular brown adipose tissue (BAT) and skeletal muscle를 분리하여 즉시 액체질소에 넣어 얼린 후 -80도 저온 냉동고에서 다음실험을 위하여 보관하였다. 좌측의 epididymal fat pads의 무게를 측정하고 실험을 하였다.

<46> 도 1은 크립토탄시논을 투여한 C57BL/6JL *Lep ob/Lepob* 마우스의 간 조직의 사진을 나타낸 것이다. 도 1의 A는 크립토탄시논을 10주령의 ob mice에 50 mg/kg/day로

26일간 주었을 경우와 대조군과의 간 조직의 모습을 나타낸 것이다. 지방간의 경우 축적된 지방에 의하여 간 조직의 색깔이 선홍색에서 옅은 갈색으로 변화하는 것을 알 수 있으며 (대조군), 크립토탄시논이 투여된 경우 비만 쥐에서 보이던 지방간을 벗어나 선홍색의 전형적인 건강한 간의 색깔을 확인할 수 있었다.

<47> 도 2 는 크립토탄시논 투여에 의한 각 기관의 무게 비교한 것인데, 비만 쥐의 체중감소 효과가 간과 복부지방조직에 의한 것임을 알 수 있었다.

<48> **실시에 4 : 정상 쥐 (B6)와 비만 쥐 (ob/ob)의 간 조직에서의 크립토탄시논의 영향**

<49> 실시에 3으로부터 적출한 간을 조직학적으로 분석하여 정상쥐, 비만쥐, 그리고 크립토탄시논을 투여한 비만쥐의 간에서의 지방조직의 분포를 oil-red o 염색방법을 사용하여 지방의 분포를 확인하였다. 도 3에서 보는 바와 같이 비만쥐 대조군에 비하여 크립토탄시논을 투여한 경우에 지방에서의 지방의 축적을 현저히 줄임에 지방조직의 지방염색을 통하여 확인할 수 있어 크립토탄시논은 지방간의 예방, 치료 목적으로 사용할 수 있음을 확인하였다.

<50> **실시에 5 : 크립토탄시논 투여에 의한 쥐의 혈중 및 간에서의 중성 지방과 콜레스테롤 양 변화**

<51> 실시에 3의 대조군인 비만쥐, 그리고 크립토탄시논을 투여한 비만 쥐로부터 채취한 혈액과 적출한 간을 이용하여 혈중 및 조직내의 중성지방 및 콜레스테롤의 함량을

Sigma-Aldrich (USA) 의 키트를 이용하여 측정하였다. 결과는 아래의 표1과 같다. 표1에서 보는 바와 같이 중성지방과 콜레스테롤의 경우 간 조직과 혈중 수치가 현저히 감소됨을 확인하였다. 이는 크립토탄시논이 비만 쥐 (ob/ob)에 장기적으로 투여된 경우 전형적인 지방간 및 동맥경화와 같은 질환을 치료할 수 있음을 보여준다.

<52> 표 1. ob/ob mice 의 혈청 (Serum), 간 그리고 조직에서의 트리글리세라이드 (Triglyceride, TG) 및 콜레스테롤 (Cholesterol) 수준

<53>

그룹	ob/ob	Ob/ob+ cryptotanshin one
콜레스테롤(mg/dl)		
Blood	172	128
Tissue	135	112
Triglyceride(mg/dl)		
Blood	235	148
Tissue	127	95

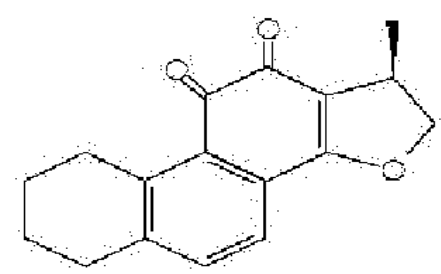
【발명의 효과】

- <54> 상기에서 설명한 바와 같이, 본 발명의 크립토탄시논은 간 조직에 지방의 축적을 막아주고 중성지방의 양을 효과적으로 억제하므로 크립토탄시논은 동맥경화증, 고지혈증 및 간 질환의 예방 및 치료에 유용하다.
- <55> 또한, 크립토탄시논은 중성지방의 효과적인 억제와 간에서의 지방축적을 막아주므로 지방대사로 인하여 발생하는 각종 질병들을 예방하거나 치료할 수 있는 식품, 화장품 및 의약품 조성물로 개발될 수 있다.

【특허청구범위】

【청구항 1】

하기 화학식의 크립토탄시논 (cryptotanshinone) 을 유효성분으로 하여 치료 및/또는 예방적 유효량 이상을 함유하는 동맥경화증, 고지혈증, 간 질환 예방 및/또는 치료용 조성물



【청구항 2】

단삼 (*S. miltiorrhiza*) 추출물을 유효성분으로 하여 치료 및/또는 예방적 유효량 이상을 함유하는 동맥경화증, 고지혈증, 간 질환 예방 및/또는 치료용 조성물

【청구항 3】

제 1 항 또는 제 2 항에 있어서, 상기 조성물은 혈중 지질 농도에 대한 강하활성 또는 간세포의 손상 및 지방간 형성을 억제하는 활성을 나타냄을 특징으로 하는 조성물

【청구항 4】

제 1 항 내지 제 3 항에 있어서, 상기 조성물은 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 담체 또는 부형제를 포함하는 것임을 특징으로 하는 조성물

【청구항 5】

제 4 항에 있어서, 유효성분의 함량이 성인 체중 1Kg 당 0.1 ~ 6,000 mg/일 범위로 투여됨을 특징으로 하는 조성물

【청구항 6】

제 5 항의 조성물을 포함하는 동맥경화증, 고지혈증, 간 질환 예방 및/또는 치료용 제제

【청구항 7】

제 6 항에 있어서, 상기 제제는 적어도 하나 이상의 약제학적으로 허용되는 담체 또는 부형제를 포함하는 것임을 특징으로 하는 제제

【청구항 8】

제 6 항 또는 제 7 항에 있어서, 상기 제제는 정제, 산제, 경질 또는 연질의 캡셀제, 현탁제, 주사용 제제, 유화액, 비경구 투여용의 단위 투여형 또는 수회 투여형 인 것임을 특징으로 제제

【청구항 9】

제 1 항 내지 제 3 항에 있어서, 상기 조성물은 약품, 약품첨가제, 음료, 음료첨가제 또는 식품, 식품첨가제 또는 화장품, 화장품 첨가제의 형태로서 제제학적으로 허용되는 부형제를 추가로 포함하는 것임을 특징으로 하는 동맥경화증, 고지혈증, 간 질환 예방 및/또는 치료용 조성물

【청구항 10】

제 9 항에 있어서, 유효성분의 함량이 0.0001 내지 10 중량% 범위로 포함됨을 특징으로 하는 조성물

【청구항 11】

단삼 (*S. miltiorrhiza*) 으로부터 a) 물 또는 유기용매 추출하여 조 추출액을 얻는 단계
b) 상기 조 추출물을 여과한 후 (감압)농축하는 단계 및 c) 선택적으로, 용매를 제거하는 단계를 포함하는 단삼 추출물 또는 크립토탄시논 (cryptotanshinone) 의 제조 방법

【청구항 12】

제 11 항에 있어서, 상기 단삼은 건조약제 또는 생약재인 것임을 특징으로 하는 제조 방법

【청구항 13】

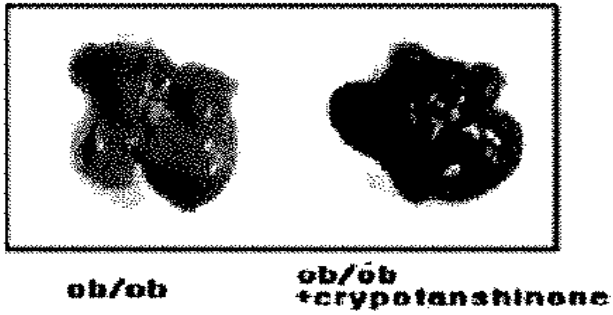
제 11 항 또는 제 12 항에 의해 제조된 단삼 추출물을 유효성분으로 함유하는 것임을 특징으로 하는 동맥경화증, 고지혈증, 간 질환 예방 및/또는 치료용 조성물

【청구항 14】

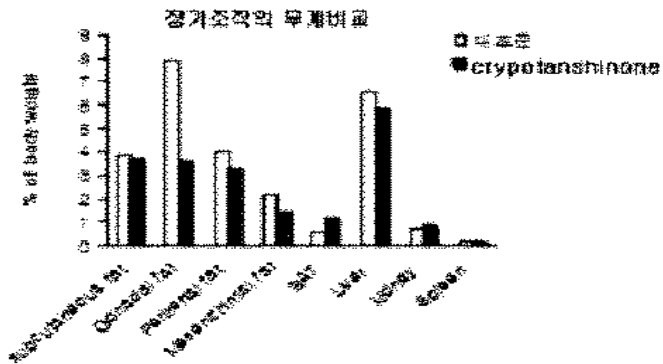
제 11 항 내지 제 12 항 중 어느 한 항의 제조방법에 의해서 제조된 동맥경화증, 고지혈증, 간 질환 예방 및/또는 치료 활성 분획물

【도면】

【도 1】



【도 2】



【도 3】

